



TITLE:

Nucleus-localized adiponectin is survival gatekeeper through miR-214-mediated AIFM2 regulation(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Cho, Junkwon

CITATION:

Cho, Junkwon. Nucleus-localized adiponectin is survival gatekeeper through miR-214-mediated AIFM2 regulation. 京都大学, 2019, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21695>

RIGHT:

許諾条件により本文は2020-01-01に公開; This is the peer reviewed version of the following article: [Cho, J., Teshigawara, R., Kameda, M., Yamaguchi, S., & Tada, T. (2019). Nucleus-localized adiponectin is survival gate keeper through miR-214-mediated AIFM2 regulation, Genes to Cells 24.] which has been published in final form at <https://doi.org/10.1111/gtc.12658>. This article may be used for non-commercial purposes in accordance with Wiley Terms and Conditions for Use of Self-Archived Versions.

京都大学	博士（医科学）	氏名	曹 準権
論文題目	Nucleus-localized adiponectin is survival gatekeeper through miR-214-mediated <i>AIFM2</i> regulation (核局在アディポネクチンはmiR-214と <i>AIFM2</i> の経路を介して細胞の生存を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>アディポネクチンは主に脂肪細胞から分泌されるアディポカインの一種で、血中に10-20 μg/ml の高い濃度で存在し、血流により全身を循環する。アディポネクチンは<i>ADIPOQ</i>遺伝子にコードされ、C1q/TNF スーパーファミリーに属するコラーゲン様ホルモンである。ヒトアディポネクチン (APN) は244 アミノ酸から、マウスアディポネクチン (Apn) は247 アミノ酸からなり、C末端から globular (C1q) ドメイン、collagenous ドメイン、variable 領域、そしてN末端シグナルペプチドにより構成される。単量体は約 30-kDa の蛋白質であるが、天然状態の血漿 APN/Apn は多量体を形成し高分子量の蛋白質として存在する。血漿 APN/Apn は、抗糖尿病・抗メタボリックシンドローム・抗老化に働き、病気予防の役者として注目されている。一方で、<i>Apn</i> のノックアウトマウスは正常に生まれるが、全組織過剰発現マウスは子孫が得られず系統が樹立できない事が知られている。また、<i>Apn</i> は脂肪細胞以外の様々な体細胞と生殖細胞でも少量ながら遺伝子の発現が報告されている。これらの背景から、APN/Apn には、未知の機能があると推察し研究を行った。その結果、1) Apn 蛋白質の globular ドメイン特異的抗体を用いた免疫染色は、様々な体細胞や生殖細胞で Apn が発現しており、細胞質に局在する（細胞質型）細胞と核に局在する（核型）細胞がある事を示した、2) 初代培養細胞であるマウス胚性線維芽細胞（MEF）では、Apn 細胞質型と核型細胞が混在し、ヒト APN のドキシサイクリン（Dox）誘導過剰発現により、APN/Apn 核型細胞が選択的に細胞死を起こした、3) マウス胚性幹（ES）細胞は、Apn 核型細胞であり、ヒト APN の Dox 誘導過剰発現が細胞死を引き起こした、4) ヒトの pre 人工多能性幹（iPS）細胞である再プログラム化中間（iRS）細胞は、APN 核型細胞であり、ヒト APN の Dox 誘導過剰発現は、細胞死を引き起こした、5) ウェスタンブロット解析は、天然状態の核型 APN/Apn の単量体での存在を示した。加えて、ヒト APN の N 末端 variable 領域に特異的な抗体を用いたウェスタンブロットと細胞免疫染色解析は、核型 APN の N 末端欠損構造を明らかにした、6) iRS 細胞における、ヒト APN の Dox 誘導過剰発現の有無間での、マイクロアレイによる発現比較解析では、Dox 誘導過剰発現時に <i>MEG3</i> (<i>maternally expressed gene 3</i>) や <i>AIFM2</i> (<i>apoptosis-inducing factor, mitochondrion-associated 2</i>) が上昇し細胞死への関与が示唆された、7) qPCR の結果、Dox 誘導過剰発現に伴う <i>MEG3/AIFM2</i> の発現上昇、miR-214-3p の発現減少が観察され、MEG3/miR-214/AIFM2 経路による細胞死誘導機構が示された、8) miR-214-3p mimic の発現導入により <i>AIFM2</i> の発現減少を伴う細胞死の減少（レスキュー）が観察され、APN の過剰発現による細胞死への MEG3/miR-214/AIFM2 経路の関与が確認され</p>			

た、9) マイクロアレイ発現解析は、核型APN/Apnが転写後発現制御、細胞接着、クロマチンリモデリングに関与する可能性を示唆した。本研究は、APN/Apnには、これまで知られている血漿APN/Apnのみならず、核局在APN/Apnが存在し、細胞の生存に関与する役割を担っている事を明らかにした。
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>血漿アディポネクチンは、脂肪細胞から分泌され、抗糖尿病や抗老化に働く因子である。本研究では、核局在アディポネクチンの分子構造と働きの解明を目的とした。抗アディポネクチン抗体を用いた免疫染色から、細胞質局在型と核局在型の細胞の存在が明らかになった。マウス胚性幹（ES）細胞、生殖細胞、ヒト再プログラム化中間（iRS）細胞、iPS細胞は核局在型を示した。核局在アディポネクチンは、天然状態で単量体として存在していた。N末端又はC末端特異的抗体を用いた解析から、核局在アディポネクチンは、N末端を欠損した切断型である事が明らかになった。マウスES及びヒトiRS細胞でのヒトアディポネクチンの強制発現は、細胞死を誘導した。ヒトiRS細胞で、アディポネクチン過剰発現有無の間でのマイクロアレイ発現比較解析により、MEG3/miR-214/AIFM2経路を介した細胞死誘導機構への関与が示された。加えて、核局在アディポネクチンの転写後発現抑制、細胞接着、クロマチンリモデリングへの関与が示唆された。これらの結果からアディポネクチンには、血漿アディポネクチンのみならず、核局在アディポネクチンが存在し、細胞の生存に関与する事が明らかになった。</p> <p>以上の研究は、アディポネクチンの新たな機能と分子機構の解明に貢献し、従来の抗老化作用に加えて、アディポネクチン機能の総合的理解に寄与することが期待される。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成31年 2月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降